ПРОГРАММА КУРСА «БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ»

(3-ий курс)

Темы и их содержание

1 Предмет и методы биологии развития

Эмбриология как наука о процессах и причинных механизмах индивидуального развития. Дифференциация клеток, тканей и зародыша в целом - центральная проблема биологии развития. Описательная, эволюционная и экспериментальная эмбриология. Фундаментальные составляющие процесса индивидуального развития: клеточная репродукция, клеточная дифференциация и морфогенез. Молекулярно-генетические основы роста, дифференциации и морфогенеза - фундаментальные проблемы биологии развития. Специфика индивидуального развития: структурная и функциональная интеграция молекулярных, клеточных и тканевых процессов в пространстве и времени. Ациклический характер онтогенеза. Универсальность и эволюционный консерватизм молекулярно-генетических систем управления развитием.

Основные методологические подходы в биологии развития: утрата функции (loss of function), приобретение функции (gain of function), прослеживание судьбы (tracing, cell lineage). Экстирпация частей или их умерщвление, трансплантация, эксплантация, диссоциация-реаггрегация. Методы маркировки клеток. Ингибиторный анализ. Методы воздействия на генетический аппарат: подавление экспрессии генов, получение и исследование мутантных форм. Методы гибридизации нуклеиновых кислот.

2 Теории развития

Эпигенез и преформизм. Наивный преформизм - овизм (Бонне), анималькулизм (Левенгук). Теория вложения. Кризис преформизма в связи с разработкой проблем сравнительной эмбриологии, регенерации, экспериментальной тератологии и генетики. Эпигенетические теории развития. Каспар Фридрих Вольф: исследование эмбрионального развития птиц. Понятие о «существенной силе».

Принципы анализа движущих сил эмбриогенеза. Финалистический (целевой) подход (Аристотель). типологический подход Бэра: закон эмбриональной дивергенции, закон зародышевого сходства. Исторический подход. Филогенез и онтогенез. Каузально аналитический подход. Исследование непосредственных материальных причин развития: роль ядра, цитоплазмы, межклеточных взаимодействий, различных физических и химических факторов.

Эволюционная эмбриология.

Сравнительно-эмбриологические исследования. Становление эволюционной эмбриологии, исследования А.О.Ковалевского и И.И.Мечникова. Биогенетический закон Мюллера - Геккеля. Теория происхождения многоклеточных животных. Теория филэмбриогенезов А.Н.Северцова. Ограниченность классической эволюционной эмбриологии.

Экспериментальная эмбриология. Роль цитоплазмы в детерминации свойств и клеток зародыша. Представление о зиготе как специализированной клетке с особым пространственным распределением веществ, детерминирующих развитие зачатков (Гис, 1874). Теория зародышевой плазмы Августа Вейсмана. Представление об идиоплазме и неравномерном распределении ядерных детерминант по хромосомам при дроблении яйца. Соматические и половые клетки. Принципи-

альная невозможность наследования признаков, приобретенных соматическими клетками. Мозаичность развивающегося зародыша. Исследования Вильгельма Ру. Ганс Дриш и доказательства равнонаследстенности делений дробления. Представление об эмбриональной регуляции.

3 Механизмы реализации процессов клеточной дифференцироки и морфогенеза

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ

Современные представления о роли наследственного аппарата в процессах дифференциации. Дифференциация и необратимые изменения генома: элиминация хромосом у Diptera, диминуция хроматина у аскарид, амплификация генов, рекомбинация ДНК. Свидетельства неизменности генома в ходе детерминации и дифференциации зачатков. Онтогенетическая и экспериментальная трансдифференциация (регенерация хрусталика). Клонирование животных и растений: Опыты на амфибиях - исследования Бриггса и Кинга на *Rana pipiens* и Гердона на *Xenopus laevis*, клонирование растительных организмов и млекопитающих.

Избирательная экспрессия генов во времени и пространстве - основа индивидуального развития. Представления Моргана о последовательном включении генов. Генные каскады. Современные представления о сложных регуляторных сетях взаимодействия. Факторы регуляции активности генома: внутренние (цитоплазматические детерминанты яйца), внешние (сигнальные молекулы).

Многоступенчатый характер регуляции экспрессии генов (транскрипционный, посттранскрипционный, посттрансляционный уровни регуляции). Эухроматин. Гетерохроматин. Механизмы «глушения» (silencing mechanisms). PcG белки (Polycomb Group). Метилирование генов.

МОРФОГЕНЕЗ

Теория позиционной информации. Пространственная организация развития. Моделирование морфогенеза. Модель французского флага Вольперта. Морфогены. Интеркалярная регенерация.

Избирательные взаимодействия клеток

Эксперименты по клеточному сортингу. Клеточная и субстратная адгезия. Молекулы клеточной адгезии как фактор эпителиального морфогенеза. Межклеточные контакты. Избирательные взаимодействия клеток с внеклеточным матриксом. Миграция клеток как результат избирательных взаимодействий.

Концепция сигналинга. Передача информации клеткам за счет избирательных взаимодействий между молекулами. Сигналинг при межклеточных взаимодействиях и при взаимодействии клеток с внеклеточным матриксом. Типы путей передачи сигнала: FGF, Hedgehog , Wnt, TGF-β и Delta-Notch.

Транскрипционные факторы: индуцируемые, конститутивные, комплексные. Факторы роста, гормоны. Рецепторы внешних сигналов - мембранные рецепторы, цитоплазматические или ядерные рецепторы.

Эмбриональная регуляция. Явление эмбриональной регуляции как свидетельство равнонаследственных делений дробления и неизменности генома в эмбриогенезе. Облигатная и факультативная полиэмбриония. Примеры полиэмбрионии у насекомых и млекопитающих. Однояйцевые близнецы. Регулятивность в развитии млекопитающих. Конструирование зародышей мыши из клеток ВКМ.

Эмбриональная индукция. История открытия. Сущность явления. Исследование межклеточных взаимодействий в раннем развитии амфибий. «Организатор» Шпемана. Спецификация мезодермы в раннем эмбриогенезе амфибий. Центр Ньюкупа. Роль белков Disheveled, VegT. Особенности детерминация мезодермы и энтодермы у Danio. Специфическая экспрессия генов в области организатора. Гены, контролирующие образование ядерных факторов организатора: *goosecoid, Siamois*. Гены, контролиующие синтез секретируемых факторов организатора: *chordin, noggin, follistatin* и др. белки - антагонисты BMP. Факторы вентрализации и дорсализации (BMP, β-катенин). Нейральная индукции: «ингибирование ингибитора». «Организаторы» у зародышей позвоночных.

Роль факторов роста в процессах эмбриональной индукции (FGF, TGF-β). Формирование дорсовентрального паттерна нервной трубки (роль гена *Sonic hedgehog*). Эпителио-мезенхимные взаимодействия, региональные различия индукционных потенций мезенхимы.

Межклеточная индукция. Индукция матки у нематоды *Caenorhabditis elegans*. Контактная индукция эпидермальной дифференциации на основе взаимодействия белков Delta и Notch у Дрозофилы. Индуктивные взаимодействия у зародышей моллюсков и морского ежа.

4. Формирование половых клеток и оплодотворение.

ГАМЕТОГЕНЕЗ

Эпигенетический и преформационный способ формирования линии половых клеток на примере книдарий, нематод, насекомых и позвоночных. Молекулярные маркеры линии половых клеток. Механизмы миграция ППК. Факторы подавления дифференцировки ППК на этапе миграции и поддержание самообновления стволовой популяции в гонаде.

Видоизменение ядерного аппарата гамет, связанное с редукцией числа хромосом и рекомбинацией. Мейоз. Кроссинговер. Нарушения мейоза и хромосомные аберрации.

Сперматогенез. Периодизация сперматогенеза. Сперматогонии. Первичные и вторичные сперматоциты. Спермиогенез. Цитологические характеристики спермиев. Разнообразие форм спермиев (типичные и атипические спермии). Канальцево-цистный и канальцевый сперматогенез. Функции вспомогательных клеток семенника: клетки Сертоли, клетки Лейдига. Гемато-тестикулярный барьер.

Оогенез. Стратегия репродукции: внешние и внутренние источники энергии, необходимые для обеспечения эмбрионального развития. Сравнительно-морфологические особенности яиц (полярность, симметрия, ооплазматическая локализация, яйцевые оболочки). Алецитальный, изолецитальный, телолецитальный и центролецитальный типы яиц. Периодизация оогенеза (миграция ППК и заселение гонады, размножение, созревание и рост, блок мейоза, овуляция). Типы оогенеза: диффузный, солитарный, полигеномный, гипертранскрипционный. Функции «трофоцитов»: синтез рРНК, иРНК, синтез нежелтковых белков. Транспорт веществ из трофоцитов. Структура и функции хромосом типа ламповых щеток. Синтез иРНК. Способы интенсификация запасания рРНК: (амплификация рибосомного гена, трансосомы). Вителлогенез, его особенности у позвоночных, насекомых и аннелид.

Проморфология яйца. Формирование осей яйца на примере Дрозофилы. Три группы генов материнского действия («передние», «задние», «терминальные» гены). Гены «передней» группы: *bicoid (bcd*). Белок Bicoid как морфоген, образующий переднезадний градиент. Гены «задней» группы: *nanos* и другие гены, обеспечивающие транспорт и фиксацию иРНК *nanos* на будущем заднем конце яйца. Транскрипционный фактор Nanos как негативный регулятор развития головных структур (репрессор *hunchback*). Гены «терминальной» группы. Выработка трофоцитами *torso*-иРНК. Дифференциация дорсовентральной оси. Ген *dorsal.* Взаимодействие белкового фактора Gurken с рецептором клеток фолликулярного эпителия Torpedo. Супрессия генов фолликулярного эпителия, контролирующих синтез белков комплекса активации сериновых протеаз перивителлинового пространства яйца. Активация рецептора Toll на вентральной стороне зародыша. Фософорилирование комплекса Dorsal/Cactus и высвобождение транскрипционного фактора Dorsal. Включение вентрализующих и дорсализующих программ.

ОПЛОДОТВОРЕНИЕ

Биологическая сущность процесса оплодотворения. Последовательные стадии процесса оплодотворения: привлечение и активация спермия, видоспецифическое связывание и слияние гамет, кариогамия, активация яйца. Факторы активации сперматозоидов: ионный баланс, осмолярность, активирующие спермии пептиды (SAP, сперакт, резакт). Капацитация спермиев млекопитающих: функции галактозилтрансферазы и поли-N-ацетиллактозамина.

Акросомная реакция спермиев морского ежа. Образование акросомной нити. Биндин и его рецепторы. Роль ионного баланса в акросомной реакции. Акросомная реакция спермиев млекопитающих. Роль *zona pellucida* яйца в заякоривании сперматозоида. Роль G-белка и фосфолипазы С в акросомной реакции. Слияние плазматических мембран гамет: фузогенные белки. Активация ооцита. Деполяризация яйца и быстрый блок полиспермии. Высвобождение ионов кальция. Экзоцитоз кортикальных гранул. Факторы медленного блока полиспермии. Условия возобновления синтеза ДНК и стимуляции белкового синтеза. Формирование мужского пронуклеуса.

5. Общие закономерности раннего развития.

ДРОБЛЕНИЕ И БЛАСТУЛА

Биологические функции процесса дробления (становление многоклеточности, нормализация ядерно-цитоплазматического отношения, ооплазматическая сегрегация). Типы дробления: голобластическое, меробластическое, абластическое/поверхностное; радиальное, спиральное, билатеральное, ротационное и неупорядоченное, или анархическое; синхронное и асинхронное дробление. Факторы, определяющие пространственную организацию делений дробления. Желток. Роль микротрубочек и микрофиламентов в процессах дробления. Кариокинез и цитокинез. Дробление как палинтомический процесс. Палинтомия и монотомия. Особенности клеточного цикла в период дробления. Циклины, MPF. Разнообразие форм бластул: целобластула, морула, стерробластула, дискобластула, перибластула.

Ядерно-цитоплазматическое отношение. Точка перехода на стадии средней бластулы (MBT- point).

ГАСТРУЛЯЦИЯ

Представление о гаструляции как о морфогенетических перемещениях клеток и клеточных пластов, в результате которых формируется общий план строения зародыша и происходит пространственное обособление зачатков. Типы морфогенетических движений (инвагинация, инволюция, ингрессия, деламинация, эпиболия, конвергентное вытяжение, реаранжировка клеток). Зародышевые листки. Проспективные карты зачатков, методы определения судьбы клеток.
ООПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ СЕГРЕГАЦИЯ
Цитоплазматическая локализация. Понятие об автономной детерминации. Клеточные клоны, клеточные родословные. Экспериментальные доказательства цитоплазматической локализации: опыты по изоляции или удалению бластомеров, по удалению полярной лопасти. Клеточные линии у червей, моллюсков, круглых червей, асцидий.

6. Ранний эмбриогенез модельных объектов биологии развития.

Развитие Spiralia. Ооплазматическая сегрегация. Полярная лопасть. Особенности спирального типа дробления. Гомоквадрантное и гетероквадрантное дробление. Дексиотропность и леотропность. МАРК и Dpp (BMP): становление дорсовентральной оси. Гаструляция и формирование трохофорной личинки. Метатрохофора. Нектохета. Экспрессия Hox-генов в ходе развития.
Развитие нематод. Гонада и механизмы поддержания популяции стволовых половых клеток или перехода к мейозу. Ооплазматическая сегрегация по типу «вскипание цитоплазмы». Дробление. Линии клеток. Механизмы сегрегации линий соматических и половых клеток. Материнские и зиготические факторы. Индукция на четырехклеточной стадии. Гаструляция.
Развитие Дрозофилы. Строение яйца. Становление осей. Дробление. Синцитиальная и клеточная бластодерма. Формирование зародышевой полоски. Презумптивная карта зачатков. Гаструляция. Бластокинез. Сегментация. Имагинальные диски. Метаморфоз.
Развитие иглокожих (морской еж, морская звезда). Овуляции, оплодотворение, дробление, судьба бластомеров (16-64 -клеточные стадии). Опыты Герстадиуса на дробящихся яйцах морского ежа. Начальные этапы реализации молекулярной программы развития: генная регуляторная сеть становления линии скелетогенной мезенхимы, материнские факторы, индукция энтомезодермы. Выселение первичной мезенхимы. Гаструляция (3 этапа формирования архентерона; начало инвагинации и модель биметаллической пластинки, конвергентное вытяжение архентерона, псевдоподиальная активность вторичной мезенхимы), образование рта, отделение целомической мезодермы. Судьба зачатков, личинки иглокожих
Развитие асцидий. Жизненный цикл. Строение яйца и яйцевые оболочки. Ооплазматическая сегрегация, миоплазма. Дробление. Становление клеточных линий: роль материнских факторов и FGF. Дифференциация мышц хвоста личинки асцидий. Гаструляция. Личиночный морфогенез, метаморфоз.
Развитие *Danio rerio* (Данио, zebrafish). Данио как модельный объект биологии развития. Меробластическое дробление. MBT, образование желточного синцития, обособление кроющего слоя бластодермы и глубоких клеток. Карта зачатков на стадии средней бластулы; начало гаструляции - эпиболия бластодермы, обособление зародышевых листков; клеточные движения (формирование зародышевого кольца и зародышевого щитка путем радиальных и медиола-

теральных интеркаляций, образование гипобласта путем инволюции и/или ингрессии, обособление хордомезодермы и энтодермы); нейральный киль и закладка ЦНС; формирование осевого комплекса зачатков. Желточный мешок.

Развитие зародыша лягушки. Строение яйца. Оплодотворение и возникновение билатеральной симметрии (дорсализация); оси симметрии, кортикальная ротация. Дробление (цитологическая характеристика), бластула, МВТ. Гаструляция. Карта презумптивных зачатков, клеточные механизмы погружения и прогрессивной сегрегации зародышевых листков и осевых структур, формирование личинки. Молекулярные аспекты развития (см. выше).

Развитие зародыша курицы. Строение ооцита, оплодотворение, формирование яйцевых оболочек. Дробление и образование бластодермы и подзародышевой полости, возникновение переднезадней и дорсовентральной осей симметрии, Келлеров серп, герминативный серп, образование гипобласта (инвазия клеток задней маргинальной зоны бластодермы, миграция и объединение с полиинвагинационными островками). Клеточные перемещения и формирование зародышевого щитка, первичной полоски и первичной бороздки. Карта презумптивных зачатков и ее динамика при формировании полоски. Гаструляция, фазы гаструляции: 1) ингрессия и обособление кишечной энтодермы и мезодермы, 2) инволюция материала хорды и перемещение Гензеновского узелка. Нейруляция, формирование осевого комплекса зачатков, формирование складок, обособляющих зародыш от желтка, эпиболия. Провизорные органы: строение и функции амниона, хориона, аллантоиса, желточного мешка. Экзоцелом. Хорио-аллантоис.

Развитие млекопитающих. Общая характеристика раннего развития. Особенности оогенеза (происхождение ППК, миграция, заселение гонад, развитие фолликулов, созревание, рост и явление импринтинга, овуляция, гормональный контроль). Особенности дробления, первичная дифференцировка клеток и формирование бластоцисты. Начало гаструляции (выселение клеток гипобласта, образование амниотической полости и сегрегация эпибласта зародыша), имплантация (строение стенки матки, адгезия и инвазия зародышей, функции трофэктодермы). Молекулярные механизмы сегрегации зародышевых и внезародышевых клеточных линий. Cdx2, Nanog, Oct4. Hippo-сигналинг. Обособление зародышевых листков и формирование осевого комплекса зачатков, проспективная карта зачатков, морфогенетические перемещения клеток в области первичной полоски и узелка, 2 фазы гаструляции. Внезародышевые органы.

7. Органогенез.

Нейруляция (механизм первичной и вторичной нейруляции, последовательные стадии, индукционные взаимодействия, дифференцировка нервной трубки). Нервный гребень (происхождение и судьба клеток нервного гребня, основные домены нервного гребня и их производные).

Развитие глаза позвоночных (морфология, детерминация и индукция).

Эпидермис и его производные у позвоночных.

Дифференциация мезодермы (5 основных областей мезодермы и их морфофункциональное значение: хордомезодерма, дорсальная мезодерма сомитов, промежуточная мезодерма, мезодерма боковых пластинок, головная мезенхима). Факторы спецификации различных типов мезодермы. Сомитогенез, Notch-сигналинг, эпителио-мезенхимные превращения при дифференцировке сомита.

Развитие сердца, его билатеральное происхождение. Ангиогенез и развитие сосудов.

Развитие мочеполовой системы

Производные энтодермы (глотка и дифференцировка пищеварительной и дыхательной трубок, судьба жаберных карманов у высших позвоночных)

Провизорные органы. Многообразие форм и многократное возникновение провизорных органов в процессе эволюции. Биологическая роль провизорных органов. Провизорные внезародышевые органы Amniota, их формирование, морфология и функции.

8. Модели морфогенеза, разметка тела.

Сегментация тела насекомых на примере Дрозофилы. Иерархия генов, контролирующих сегментацию тела: гены материнского действия, гены сегментации и гомеозисные гены. Гены сегментации: гены пробела (*gap genes*) - *hunchback, Krüppel, knirps, tailless*. Гены парности (*pair-rule genes*): первичные (*hairy, even-skipped*), вторичные (*fushi-tarazu, paired, odd-paired*). Структура промотора гена *even-skipped*, обеспечивающая точную пространственную локализацию экспрессии этого гена. Зависимость экспрессии генов полярности *engrailed* и *wingless* от экспрессии генов парности. Гомеозисные гены. Антеннапедиа-комплекс и биторакс-комплекс. Колинеарность экспрессии. Структура гомеозисных генов: гомеобокс и гомеодомен.

Разметка тела зародыша по переднезадней оси. Гипотеза Hox-кода.

Развитие конечности у высших позвоночных. Поле конечности. Спецификация положения полей передних и задних конечностей. Роль генов *FGF-10, FGF-8, Tbx5* и *Tbx4*. Детерминация дорсовентральной оси: роль генов *Wnt7a*. Детерминация области апикального эктодермального гребня. Роль АЭГ: мутации; опыты по удалению и трансплантации дополнительного АЭГ. Детерминация проксимо-дистальной оси (транзитная зона или зона «прогресса», модель двойных градиентов). Детерминация переднезадней оси. Зона поляризующей активности. Роль генов *Shh, BMP*. Возможные функции ретиноевой кислоты в регионализации зачатка конечности. Роль кластерных *HoxA* и *HoxD* генов в формировании паттерна конечности. Роль апоптоза в развитии конечности.

Формирование лево-правой асимметрии в развитии позвоночных. *Situs inversus*. Становление лево-правой асимметрии у *Xenopus*. Лево-правая асимметрия у позвоночных. Роль генов *Shh, BMP, Nodal, Lefty* и *Pitx2.*

9. Детерминация пола.

Формы репродукции животных. Половая репродукция - главное направление эволюции. Изогамия и гетерогамия. Гонохоризм и гермафродитизм. Виды гермафродитизма (синхронный, последовательный: протогинный и протандрический). Первичная и вторичная детерминация пола.

Разнообразие механизмов детерминации пола. Гетерохромосомный тип детерминации пола. Половые хромосомы. Гаплодиплоидный механизм детерминации пола. Зависимое от факторов среды (фенотипическое) определение пола (эхиуриды, аннелиды, рыбы, рептилии).

Принципиальная схема молекулярно-генетических механизмов гетерохромосомного определения пола у Дрозофилы (гены, репрезентирующие X хромосому

и аутосомы; генный каскад *sex-lethal, transformer, doublesex*; роль альтернативного сплайсинга), *Caenorhabditis elegans* (роль гена *sex*-1, генный каскад *xol-1,sdc, her-1, tra2, fem, tra1*) и млекопитающих (функция генов *SRY* и *DAX1, Sox9, β-catenin*, детерминация пола гонады, роль гормональных факторов).

10. Регенерация и бесполое размножение.

Регенерация. Общая характеристика. Классификация. Клеточные процессы и морфогенез. Эпителизация (механизм эпителизации, роль раневого эпидермиса). Клеточные источники на примере регенерации планарий, конечности и глаза Хвостатых амфибий. Регенерационная бластема. «Позиционная память» регенерационной бластемы. Роль нервной системы. Эксперименты с ретиноевой кислотой и их интерпретация; регенерационные территории и роль гомеозисных генов.

Бесполое размножение. Общая характеристика. Биологические функции (увеличение численности, средство расселения, переживание неблагоприятных условий, регуляция размеров). Классификация, полифилетическое происхождение.

11. Экологические и эволюционные аспекты развития.

Влияние различных факторов на развитие.

Evo-Devo. Дупликация генов, изменения в регуляторных зонах, консервативность генных регуляторных сетей.

Рекомендуемые материалы и литература:

Презентации и конспекты курса

Учебники:

А. К. Дондуа «БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ», СПб, 2018 г.

С. Гилберт «Биология развития»

S. Gilbert, M. Barresi. Developmental biology, 11th ed, 2016